



引用格式: 谭梅娟, 王捷, 王清华, 等. 链带藻源生物刺激剂提高小麦对盐胁迫的生理适应[J]. 西北植物学报, 2024, 44(6): 0853-0862. [TAN M J, WANG J, WANG Q H, et al. Application of *Desmodesmus* sp. extract as a biostimulant improves physiological adaptation of wheat to salt stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2024, 44(6): 0853-0862.] DOI: 10.7606/j.issn.1000-4025.20230691

链带藻源生物刺激剂提高小麦对盐胁迫的生理适应

谭梅娟¹, 王捷^{1,2*}, 王清华^{1,2}, 王嘉姝¹, 余晨钊¹, 刘琪³

(1 太原师范学院 生物科学与技术学院, 山西晋中 030619; 2 太原师范学院 汾河流域地表过程与资源生态安全山西省重点实验室, 山西晋中 030619; 3 山西大学 生命科学学院, 太原 030006)

摘要 【目的】盐胁迫是影响小麦萌发、生长和生产的最重要环境因素。探究链带藻生物刺激剂对盐胁迫条件下小麦种子和早期幼苗抗盐、生长和生理的缓解效应以及最佳施用浓度, 可为其应用于缓解小麦盐胁迫提供理论依据。【方法】通过室内培养皿培养法, 将小麦种子置于 100 mmol/L NaCl 胁迫下, 外源添加 25, 50, 100, 200 mg/L 的链带藻提取物(DAE), 处理 7 d 后测量各项萌发和生长参数。【结果】外源添加 DAE 处理缓解了盐胁迫对小麦种子萌发和早期幼苗生长的抑制作用, 提高了盐胁迫下小麦种子的萌发率和叶片含水量, 促进了生物量的积累; 提高了幼苗叶片超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、抗坏血酸过氧化物酶活性以及脯氨酸、可溶性总糖、可溶性蛋白质和叶绿素的含量; 降低了脂质过氧化作用, 减少了丙二醛含量和膜透性。在 100 mmol/L NaCl 胁迫条件下, 25 mg/L DAE 对盐胁迫下小麦种子萌发及早期幼苗生长的促进作用效果最佳。【结论】链带藻细胞提取物通过促进小麦种子早期萌发的启动, 提高小麦幼苗叶绿素含量、抗氧化酶活性和渗透调节能力, 增强小麦种子及早期幼苗对盐胁迫的适应性, 提升了小麦的耐盐能力。

关键词 链带藻; 盐胁迫; 小麦; 种子萌发; 幼苗生长; 生理指标

中图分类号 Q945; S512 **文献标志码** A

Application of *Desmodesmus* sp. extract as a biostimulant improves physiological adaptation of wheat to salt stress

TAN Meijuan¹, WANG Jie^{1,2*}, WANG Qinghua^{1,2}, WANG Jiashu¹, YU Chenke¹, LIU Qi³

(1 College of Biological Science and Technology, Taiyuan Normal University, Jinzhong, Shanxi 030619, China; 2 Shanxi Key Laboratory of Earth Surface Processes and Resource Ecology Security in Fenhe River Basin, Taiyuan Normal University, Jinzhong, Shanxi 030619, China; 3 College of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract [Objective] Salt stress is the most important environmental factor affecting wheat germination, growth, and production. In order to investigate the alleviation effect of the biological stimulator *Desmodesmus* sp. on growth and physiology of wheat seeds and early seedlings under salt stress as well as screening the best application concentration, the study can provide a basis for its application to alleviate the impact of salt stress on wheat. [Methods] Using the petri dish culture method, wheat seeds germinated

收稿日期: 2023-10-31; 修改稿收到日期: 2024-02-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(32000167, 31970217); 2023 年山西省高等学校教学改革创新项目(J20231101); 2023 年山西省高等学校大学生创新创业训练项目(20230927)

作者简介: 谭梅娟(1999—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事藻类资源化利用研究。E-mail: 1244534234@qq.com

* 通信作者: 王捷, 博士, 副教授, 主要从事藻类分类及资源化利用研究。E-mail: nostoc@126.com

under 100 mmol/L NaCl were treated with 25, 50, 100, and 200 mg/L of *Desmodemus* sp. extracts (DAE), and germination and growth parameters were measured after 7 days. [Results] DAE alleviated the inhibitory effect of salt stress on seed germination and early seedling growth of wheat. DAE increased the seed germination rate and leaf water content of wheat under salt stress, enhanced the accumulation of biomass, the activity of superoxide dismutase, peroxidase, catalase, ascorbate peroxidase, as well as the content of proline, total soluble sugars, soluble proteins, and chlorophyll, but reduced lipid peroxidation, malondialdehyde content, and membrane permeability in leaves. Under 100 mmol/L NaCl, 25 mg/L DAE had the best mitigating effect on wheat seed germination and early seedling growth. [Conclusion] By promoting the germination of wheat seeds, the *Desmodemus* sp. extracts can improve the chlorophyll content, antioxidant enzyme activity, and osmotic adjustment ability of wheat seedlings to enhance the adaptability of wheat seeds and young seedlings to salt stress.

Key words *Desmodemus* sp. ; salt stress; wheat; seed germination; seedling growth; physiological indicator

小麦(*Triticum aestivum* Linn.)是世界上仅次于水稻的第二大主食作物,可提供人类正常饮食中近 60%的蛋白质和能量^[1-2]。由于气候变化导致的极端事件频发,植物在其生命周期中经历了大量的非生物胁迫和生物胁迫,其中盐胁迫比其他因素更能降低植物的生长和土壤肥力,限制了全球农业的增长和生产力^[3-4]。土壤盐度是制约小麦种子萌发和早期幼苗生长的主要因素,尤其是在世界干旱和半干旱地区。萌发是植物生长的第一阶段,即使是耐盐物种也易受盐度增加的影响,在这个阶段提高植物对高盐度的耐受性可以促进其生长并增加其生产力^[5-6]。因此,在盐胁迫条件下提高种子萌发潜力和种子萌发率是增强小麦耐盐性的关键。

微藻在世界范围内分布广泛,生长迅速,能产生一系列有价值的生物活性化合物,并且不与粮食作物竞争种植土地和空间^[7]。微藻源生物刺激剂是从微藻中提取的具有调控植物生长作用的一类新型生物刺激剂。应用微藻源生物刺激剂处理农作物,可以使作物生长更旺盛、产量更高、对生物及非生物胁迫的抵抗力更强和果实的保质期更长^[8]。研究表明,添加杜氏盐藻、衣藻和固氮鱼腥藻等微藻提取物提高了盐胁迫条件下小麦的根茎长度和叶绿素含量,增强了抗氧化酶的活性,从而提高了小麦的耐盐性,缓解了盐胁迫对小麦种子发芽和幼苗生长的抑制作用^[9-10];施用蓝藻提取物提高了盐胁迫下辣椒的抗氧化活性,对脯氨酸积累也有一定改善,提高了其对盐胁迫的耐受力^[11];在胁迫条件下,微藻提取物对植物种子萌发和早期幼苗生长具有促进作用,种子表现出更高的萌发率,早期幼苗也可积累更多生物量^[12]。

因此,使用微藻细胞提取物处理植物种子是增

强植物抗非生物胁迫能力的一种潜在的、可持续的方案。目前微藻生物刺激剂研究主要集中在具有固氮作用的蓝藻上,对于其他门类微藻作为生物刺激剂的应用效果还有待深入研究。绿藻门种类提取物含有植物生长所需要的一些植物生长促进物质,如生长素、细胞分裂素、维生素和氨基酸等,具有成为生物刺激剂来源的潜能^[13]。

链带藻(*Desmodemus* sp.)隶属于绿藻门栅藻科,可在多种复杂环境条件下生长,其生物量的积累量和高附加值产物的生产率较高,主要是蛋白质含量高且蛋白降解物具有抗氧化功能,在经济上具有较强的竞争力,因此链带藻可能在刺激种子发芽和受胁迫植物生长方面具有大的促进作用^[14-15]。本试验以小麦和链带藻为材料,研究不同浓度外源链带藻提取物(DAE)处理对盐胁迫下小麦种子萌发,以及对盐胁迫下早期幼苗生长的影响,以期初步探明 DAE 对小麦种子耐盐性的影响,并筛选链带藻源生物刺激剂最佳施用浓度,为链带藻源生物刺激剂在缓解小麦种子盐胁迫方面的应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 微藻培养与收获

从山西省吕梁市交城县庞泉沟自然保护区土壤中分离纯化获得的微藻藻株,通过形态学和分子数据等方法对藻株进行分类学鉴定,鉴定为链带藻属(*Desmodemus* sp.)的一种^[16]。分离纯化的藻细胞接种于含有 BG-11 培养基的锥形瓶中,置于温度 25℃、转速 140 r/min 和白光荧光 135 μmol/(m²·s)的条件下进行扩大培养。随后将生长状态良好的藻液,离心 10 min(4 000 r/min),离心完后沉淀为

藻泥,用蒸馏水多次冲洗藻泥,以排除培养基的影响,最终得到纯净藻泥。将纯净藻泥于 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻干燥机内冷冻干燥 48 h 制成藻粉,收集的藻粉于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存备用。

1.2 微藻细胞提取物制备

将 0.5 g 干藻粉溶解于 50 mL 去离子水中,使用超声波破碎仪,在超声功率 400 W 条件下超声处理,冰浴破碎 20 min (超声 6 s ,间隔 4 s)。摇动破碎液 1 h ,之后进行离心,离心后的上清液为提取物母液,其浓度为 0.01 g/mL 。用去离子水稀释到不同浓度($25, 50, 100, 200\text{ mg/L}$), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.3 微藻细胞提取物的物理化学表征

对藻类提取物进行物理化学表征,分析其生化含量和物理性质。使用酸度计测量提取物的 pH 值。使用多参数水质计测量电导率、盐度和总溶解固体(TDS)在提取物中的含量,每次测量都有适当的标准。蛋白质含量采用 Bradford 的方法^[17]测定,并以 mg/mL 表示。微藻细胞提取物中存在的钠(Na)、钾(K)和钙(Ca)含量通过火焰光度计测定,用适当的标准校准,并以 $\mu\text{g/g}$ 表示。

1.4 试验设置

参考已有文献并通过预实验确定培养液及中度盐胁迫浓度,将处理培养液设置 6 个处理,分别为蒸馏水(CK), 100 mmol/L NaCl 溶液(S), $S+25\text{ mg/L}$ 微藻提取物(T_1), $S+50\text{ mg/L}$ 微藻提取物(T_2), $S+100\text{ mg/L}$ 微藻提取物(T_3), $S+200\text{ mg/L}$ 微藻提取物(T_4)。选取大小均匀、颗粒饱满的小麦种子(‘济麦 22’),将种子在 20 mL 的 0.5% NaClO 溶液中消毒 30 min 后,无菌水冲洗 $3\sim 4$ 次。随后将种子置于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 黑暗条件下,蒸馏水中浸泡 12 h ,再在含有有用以上处理液充分浸湿的双层滤纸的培养皿中均匀摆放上已消毒的 50 粒小麦种子,每个处理重复 3 次;于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度为 60% 、光/暗光周期为 $12\text{ h}/12\text{ h}$ 条件下的恒温培养箱中进行种子萌发试验。每日更换滤纸并补充相应处理液以保持培养皿中滤纸的湿度。

1.5 测定参数及方法

1.5.1 种子萌发指标

每天统计小麦种子的发芽数(以胚根达到种子长度时为发芽标准),到第 7 天为止。依据观察数据计算小麦种子发芽率(P_g)、发芽势(E_g)和发芽指数(I_g)。

$$P_g = n_{7d}/N \times 100\% \quad (1)$$

$$E_g = n_{3d}/N \times 100\% \quad (2)$$

$$I_g = \sum (G_t/D_t) \quad (3)$$

式中: n_{7d} 、 n_{3d} 分别为萌发 7 d 、 3 d 的发芽种子数; N 为供试种子数; G_t 为在第 t 天的发芽种子数; D_t 为相应的发芽时间。

1.5.2 生长参数

经过不同培养液处理后,让种子萌发生长 7 d ,随后收获进行鲜质量和干质量分析。在收获过程中将植株与植株分离后,用刻度尺测量植株的最终茎长和根长。电子天平分别称量收获植株的茎叶和根新鲜质量,然后将其置于烘箱, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 干燥 48 h ,分别测定它们干质量。

1.5.3 生理生化指标

对生长到第 7 天的 wheat 早期幼苗,采集根系测量根系细胞膜透性;采集新鲜叶片,测定叶片含水量、光合色素、可溶性总糖、可溶性蛋白、脯氨酸和丙二醛(MDA)含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性。

膜透性采用电导率法测定,以相对电导率表示;叶片相对含水量参照王帆等^[18]的方法测定;叶片脯氨酸含量按照 Planchet 等^[19]的酸性茚三酮法,可溶性糖含量采用蒽酮法测定^[20];采用分光光度法($665, 649, 470\text{ nm}$)测定幼苗中叶绿素 a(Chl a)、叶绿素 b(Chl b)和类胡萝卜素含量^[21];采用 Heath 和 Packe 的方法^[22],以丙二醛(MDA)浓度记录脂质过氧化变化量;可溶性蛋白含量按照 Bradford^[17]描述的方法测定,以牛血清白蛋白(BSA)的标准曲线为参考;SOD、POD、CAT 和 APX 活性用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒测定和计算,严格按照试剂盒操作,添加相应试剂。

1.6 数据统计分析

所有数据均以 3 个独立重复的平均值 $\pm$ 标准差(SD)表示。用方差分析(ANOVA)和 Duncan 检验($P < 0.05$)比较不同处理之间的平均值。用 SPSS 21.0 软件进行方差分析,用 OriginPro 8.5 软件制图。

2 结果与分析

2.1 微藻细胞提取物的物理化学特性

通过超声破碎提取藻细胞积累的代谢物作为生物刺激剂。为了确定链带藻提取物作为营养补充剂和生物刺激剂的适宜性,对这些提取物进行理化表征,以了解其物理性质和化学成分。测定结果(表 1)表明,所有藻类提取物酸碱度(pH)均在中性偏碱性范围内,其电导率、盐度和总溶解固体(TDS)含量

的变化范围分别为 2.26~14.85 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 、1 200~8 400 mg/L 和 0.43~3.37 ng/kg 。200 mg/L 藻类提取物中蛋白质含量为 0.647 mg/L , Na、K 和 Ca

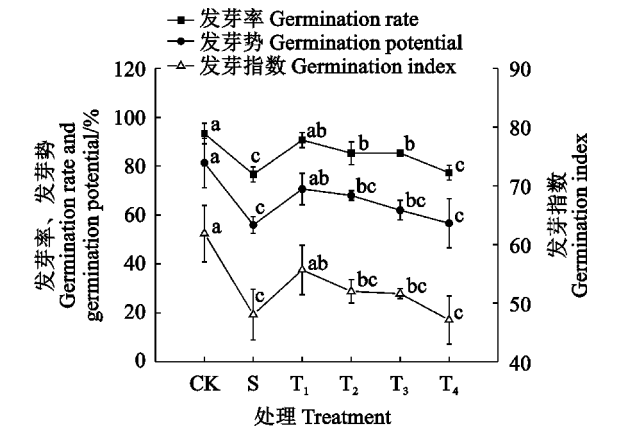
元素含量分别为 0.797, 1.417, 2.297 mg/mL 。说明链带藻提取物具有成为营养补充剂的潜力,且更适合与碱性肥料配施。

表 1 不同浓度微藻细胞提取物的理化表征
Table 1 Physicochemical characterization of microalgae cell extracts at different concentrations

理化特征 Physicochemical characteristics	微藻细胞提取物浓度 Concentration of microalgae cell extracts/(mg/L)				
	0	25	50	100	200
酸碱度 pH	7.31 $\pm$ 0.05	7.52 $\pm$ 0.005	7.56 $\pm$ 0.015	7.62 $\pm$ 0.015	7.67 $\pm$ 0.005
电导率 Conductivity/($\mu\text{S}/\text{cm}$)	0	2.26 $\pm$ 0.105	4.27 $\pm$ 0.275	7.54 $\pm$ 0.050	14.85 $\pm$ 0.265
盐度 Salinity/(mg/mL)	0	1.20 $\pm$ 0.015	2.29 $\pm$ 0.020	4.23 $\pm$ 0.065	8.40 $\pm$ 0.220
可溶性固体含量 Soluble solids content/(ng/kg)	0	0.43 $\pm$ 0.015	0.89 $\pm$ 0.030	1.72 $\pm$ 0.050	3.37 $\pm$ 0.150
蛋白质含量 Protein content/(mg/mL)	0	0.105 $\pm$ 0.0087	0.266 $\pm$ 0.0014	0.386 $\pm$ 0.0100	0.647 $\pm$ 0.0800
K/(mg/mL)	0	0.212 $\pm$ 0.0057	0.341 $\pm$ 0.0113	0.715 $\pm$ 0.0129	1.417 $\pm$ 0.0822
Ca/(mg/mL)	0	0.368 $\pm$ 0.0054	0.677 $\pm$ 0.0257	1.320 $\pm$ 0.0327	2.297 $\pm$ 0.1078
Na/(mg/mL)	0	0.111 $\pm$ 0.0042	0.204 $\pm$ 0.0042	0.412 $\pm$ 0.0042	0.797 $\pm$ 0.0386

2.2 链带藻细胞提取物对小麦种子萌发的影响

小麦种子的萌发参数发芽率、发芽势和发芽指数均表现出相似的变化趋势,即在盐胁迫条件下均受到显著抑制,链带藻细胞提取物(DAE)可以不同程度缓解盐胁迫对小麦种子萌发的抑制作用,且这种缓解效应随着 DAE 浓度的增加而下降(图 1)。



CK 为蒸馏水对照;S 为 100 mmol/L NaCl 溶液处理;
T₁—T₄ 分别表示在 100 mmol/L NaCl 胁迫下添加 25,50,100,
200 mg/L 微藻提取物处理。不同小写字母表示处理间在
0.05 水平存在显著性差异($P<0.05$)。下同。

图 1 微藻提取物对盐胁迫下小麦种子发芽率、
发芽势和发芽指数的影响

CK is water, control. S is treatment with 100 mmol/L NaCl.
T₁—T₄ represent treatments with 25, 50, 100, 200 mg/L
microalgae cell extracts under 100 mmol/L NaCl, respectively.

The different letters indicate significant differences
among treatments at 0.05 level. The same as below.
Fig. 1 Germination rate, germination potential,
and germination index of wheat seeds treated with
microalgae cell extracts under NaCl stress

其中,小麦种子发芽率、发芽势和发芽指数在 S 处理组(100 mmol/L NaCl)分别比 CK 组显著下降了 17.00%、45.24%和 28.71%($P<0.05$),在不同浓度 DAE 处理下均比 S 处理组不同程度提高,且在 T₁ 处理下增幅均达到显著水平,分别达到 18.26%、26.19%和 15.80%($P<0.05$),此时均与 CK 组无显著差异。同时,T₂—T₄ 处理组小麦种子发芽率、发芽势和发芽指数均显著低于 CK 组,T₄ 处理组均与 S 处理组无显著差异。可见,不同浓度链带藻细胞提取物对盐胁迫下小麦种子萌发均有不同程度促进作用,缓解盐胁迫的抑制,并以 25 mg/L 浓度促进效果最佳。

2.3 链带藻细胞提取物对小麦幼苗生长和生物量积累的影响

小麦早期幼苗的茎长、根长以及茎叶和根的鲜、干质量在盐胁迫下均比对照显著降低,在添加外源 DAE 处理后又均比盐胁迫处理有所增加,并且增幅随着 DAE 浓度的增加而减小(图 2)。其中,与盐胁迫处理(S)相比,T₁—T₄ 处理幼苗株高和根长分别显著增加 15.28%~61.26%和 16.33%~116.33%($P<0.05$);幼苗茎叶鲜质量、干质量分别比 S 处理增加 3.43%~41.63%和 2.97%~40.92%,根鲜质量和干质量分别比 S 处理增加 9.39%~69.60%和 1.42%~44.05%,T₁ 处理茎叶和根的鲜质量、干质量增幅均达到显著水平,但 T₄ 处理增幅均未达到显著水平。同时,小麦早期幼苗的叶片相对含水量在盐胁迫下也比对照显著降低,在各浓度 DAE 处理下比盐胁迫处理增加 1.00%~7.61%,且增幅也

随 DAE 浓度增加而降低, T_1 和 T_2 处理增幅达显著水平(图 2)。

以上结果表明,不同浓度 DAE 处理均能不同

程度改善盐胁迫下小麦早期幼苗的生长状况,其改善效果随着 DAE 浓度的升高而逐渐降低,并以 25 mg/L DAE 处理的效果最佳。

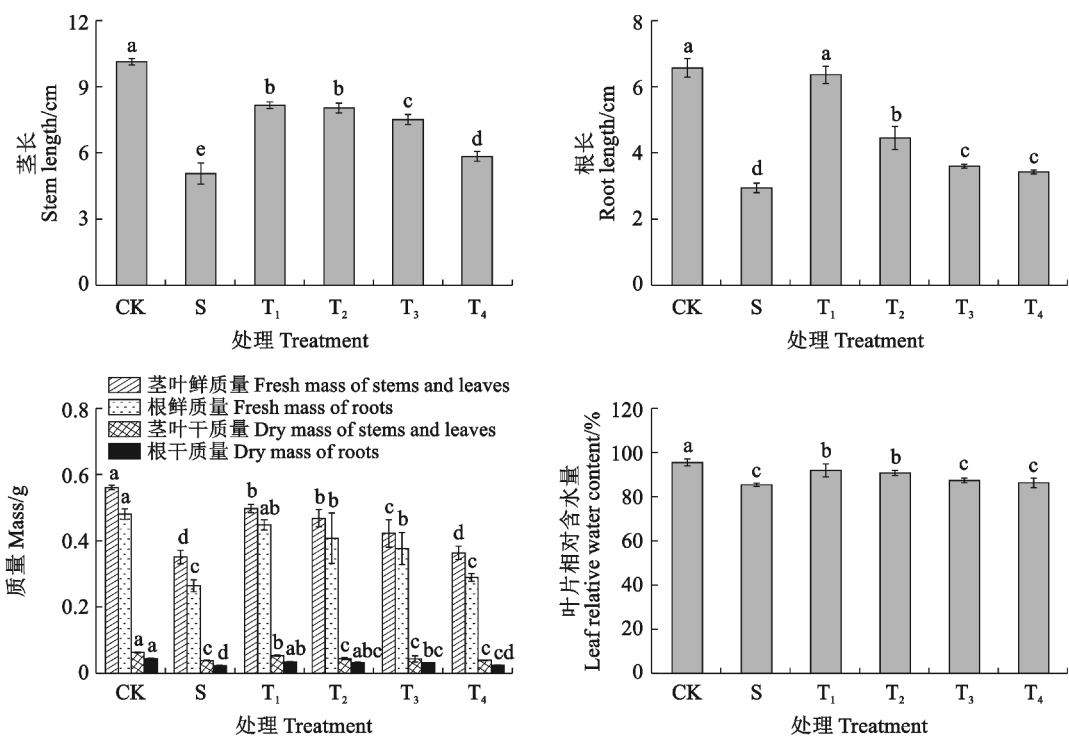


图 2 微藻提取物对盐胁迫下小麦幼苗生长及叶片相对含水量的影响

Fig. 2 Growth and relative water content in wheat leaves treated with microalgae cell extracts under NaCl stress

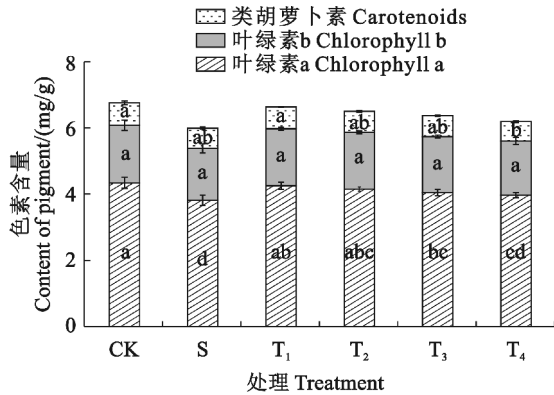


图 3 微藻提取物对盐胁迫下小麦幼苗叶片光合色素含量的影响

Fig. 3 Photosynthetic pigment content in wheat leaves treated with microalgae cell extracts under NaCl stress

2.4 链带藻细胞提取物对小麦幼苗叶片光合色素含量的影响

植物光合色素含量在逆境胁迫下通常呈现显著下降趋势,常被用作评估植物非生物胁迫耐受性的重要指标。图 3 显示,盐胁迫处理小麦幼苗叶绿素 a(Chl a)含量比对照显著降低,而其类胡萝卜素和

叶绿素 b(Chl b)含量均无显著变化。与 S 处理相比, T_1 — T_4 处理早期幼苗 Chl a 含量提高 4.04%~11.63%,且增幅随着 DAE 浓度增加而降低,特别是在 T_1 — T_3 处理下增幅达到显著水平($P < 0.05$);同时, T_1 — T_4 处理幼苗 Chl b 和类胡萝卜素含量虽然也比 S 处理有所增加,但增幅不显著($P > 0.05$)。可见,外源添加 DAE 可缓解盐胁迫下小麦叶绿素 a 含量的下降趋势,并以 25 mg/L 浓度处理效果最好。

2.5 链带藻细胞提取物对小麦幼苗叶片渗透调节物质含量的影响

小麦早期幼苗的可溶性蛋白、可溶性总糖和脯氨酸含量在盐胁迫下均比对照显著提高,在各浓度 DAE 处理下又比盐胁迫处理不同程度提高(图 4)。其中,与盐胁迫处理相比,各浓度 DAE 处理幼苗可溶性蛋白和可溶性糖含量分别增加 8.78%~32.93%和 7.10%~22.13%,增幅均随着 DAE 浓度增加而降低,并分别在 T_1 — T_4 和 T_1 — T_3 处理下达到显著水平($P < 0.05$)(图 4);各浓度 DAE 处理小麦幼苗叶片脯氨酸含量比盐胁迫增加了 0.74%~5.16%,

且增幅随着 DAE 浓度增加而升高,但仅 T_4 处理增幅达到显著水平(图 4)。以上结果表明,各浓度 DAE 处理均能促进盐胁迫下小麦早期幼苗可溶性蛋白、可溶性总糖、脯氨酸合成和积累,25 mg/L 浓度处理对可溶性蛋白和可溶性总糖积累的促进效果最佳,而 200 mg/L 浓度处理对脯氨酸积累的促进效果最佳。

2.6 链带藻细胞提取物对小麦幼苗叶片抗氧化酶活性的影响

图 5 显示,盐胁迫处理后,小麦早期幼苗叶片中抗氧化酶活性较对照组均显著增加;而在盐胁迫条

件下,添加外源 DAE 使得抗氧化酶活性进一步提升,且随着 DAE 浓度增加,SOD 活性提升幅度逐渐提高,其余抗氧化酶活性提升幅度逐渐降低。其中,与盐胁迫处理(S)相比, T_1-T_4 处理 SOD 活性均显著提高,增幅为 9.4%~19.54% ($P<0.05$),但仅 T_4 与 T_1 处理间差异显著;POD 和 CAT 活性在 T_1 处理下分别比 S 处理显著提高了 37.98%和 35.40% ($P<0.05$),但其他 DAE 浓度处理与 S 处理之间没有显著差异;APX 活性在 T_1 和 T_2 处理下分别比 S 处理显著提高了 16.43%和 15.29% ($P<0.05$),在其他浓度处理下与比 S 处理之间没有显著差异。

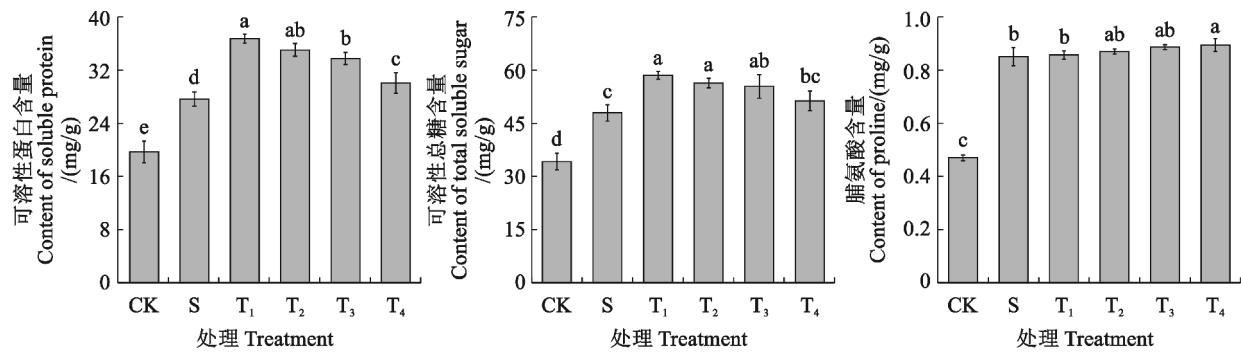


图 4 微藻提取物对盐胁迫下小麦幼苗渗透调节物质含量的影响
Fig. 4 Content of osmotic regulatory substances in wheat seedlings treated with microalgae cell extracts under NaCl stress

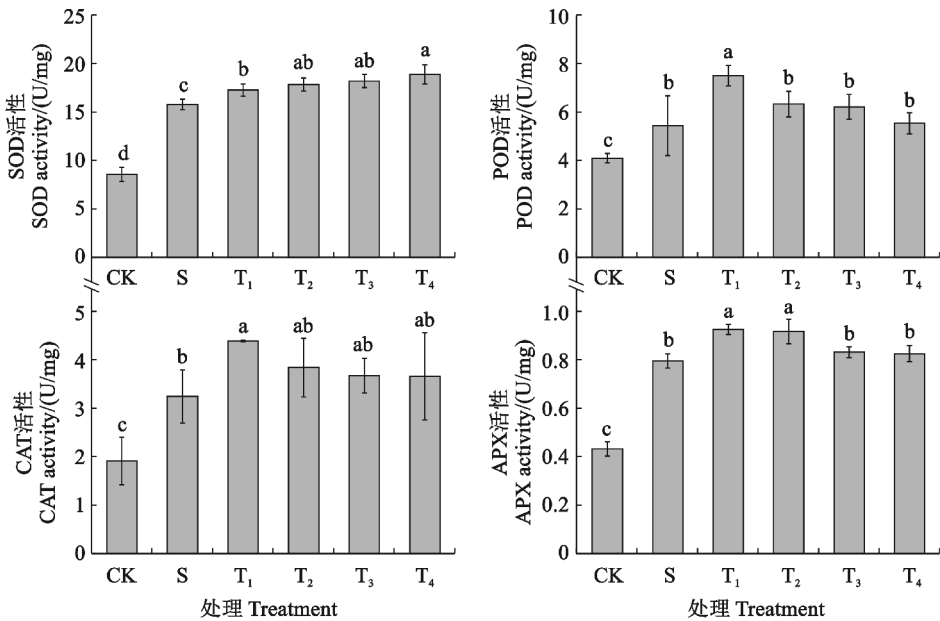


图 5 微藻提取物对盐胁迫下小麦幼苗 SOD、POD、CAT 和 APX 活性的影响
Fig. 5 The activity of SOD, POD, CAT and APX in wheat seedlings treated with microalgae cell extracts under NaCl stress

2.7 链带藻细胞提取物对小麦幼苗脂质过氧化作用的影响

盐胁迫致使小麦早期幼苗根系膜透性和叶片MDA含量显著增加,施用微藻提取物可以缓解这种氧化损伤,但缓解效应随着DAE浓度的增加而减弱(图6)。其中,与盐处理组相比,施用各浓度

DAE均使根系膜透性降低,且 T_1 和 T_2 处理均达到显著水平($P < 0.05$),降幅分别为14.41%和8.49%;同时, $T_1 - T_4$ 处理幼苗叶片MDA含量均比盐胁迫下显著降低,降低幅度分别为45.55%、30.94%、27.98%和22.47%,随着DAE浓度增加而减小。

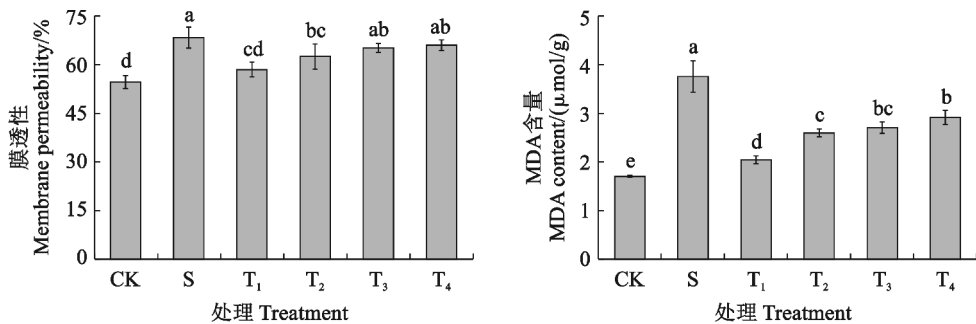


图6 微藻提取物对盐胁迫下小麦幼苗膜透性和MDA含量的影响

Fig. 6 Membrane permeability and MDA content of wheat seedlings treated with microalgae cell extracts under NaCl stress

3 讨论

3.1 微藻提取物对种子萌发的影响

本研究中,100 mmol/L NaCl胁迫对小麦种子的萌发具有显著的抑制作用,蒸馏水处理种子的发芽率、发芽势和发芽指数均最高;与盐胁迫处理相比,加入外源DAE缓解了盐胁迫对小麦种子萌发的负面影响。盐度胁迫可以通过限制水分吸收和破坏蛋白质生产过程等途径来抑制或延迟种子萌发^[23]。Bahmani等^[24]发现,与对照相比,海藻和微藻提取物预处理均使盐胁迫下白花牛角瓜(*Calotropis procera*)种子萌发率提高。藻类提取物促进种子萌发可能是由于它们启动了种子萌发前的代谢活动,为萌发做好准备。此外,藻类提取物中含有各种甜菜碱和甜菜碱类化合物,甜菜碱在植物中可以降低高盐度引起的渗透胁迫^[25]。Khan等^[26]发现次生代谢物在体细胞胚种子的成功形成中具有重要作用,外源添加次生代谢物可以促进种子萌发。

3.2 微藻提取物对小麦早期幼苗生长及生物量的影响

盐度胁迫通过降低小麦的组织含水量、膜完整性和光合色素含量来抑制其生长,对小麦早期幼苗造成损伤^[27]。本研究结果表明,100 mmol/L NaCl胁迫显著降低了小麦早期幼苗的茎长、根长和根茎叶的生物量,这与早期的研究^[28]一致,生物量的降低可能是由于渗透效应降低了茎轴的分生组织的活

性^[29]。DAE处理明显降低盐胁迫对早期小麦幼苗根茎生长及生物量积累的抑制作用,显著提高了盐胁迫下小麦早期幼苗的生长。DAE处理幼苗根长和茎长的增加可能是由于一些生物活性化合物存在,如IAA和IBA、赤霉素、细胞分裂素、微量营养素和氨基酸^[30],同时渗透调节物质含量增加也维持了渗透平衡。另外,本研究结果表明,盐胁迫显著降低了小麦幼苗的叶绿素含量。非生物胁迫下叶绿素降解通常与ROS积累有关,这是由于ROS的积累会导致叶绿体膜的脂质过氧化^[31],并且盐胁迫减少了同化物向生长叶片的供应,抑制了光合色素的合成^[32]。而膜透性升高通常是由于ROS含量增加造成^[31]。本研究中,盐胁迫增加了小麦早期幼苗MDA含量,产生的ROS损害了细胞膜完整性,增加了根系细胞膜透性。与盐胁迫组相比,各浓度DAE处理的小麦早期幼苗叶片MDA水平均有所下降,叶绿素含量水平极显著提高,促进了盐胁迫条件下植物生长。因此,微藻提取物处理降低了盐胁迫下小麦脂质过氧化作用,提高了叶绿素含量,促进了生物量的积累,可以改善盐胁迫下小麦幼苗生长,然而其作用机制非常复杂,有待进一步研究。

3.3 微藻提取物对小麦早期幼苗抗氧化能力的影响

盐胁迫可以通过影响植物的渗透压、超氧化物离子稳态和抗氧化反应等生理生化过程限制其生长发育。微藻提取物具有调节植物对不同胁迫环境抗性的能力。本研究表明,外源微藻提取物可通过提

高抗氧化活性减轻盐胁迫对小麦早期幼苗生长的不利影响。抗氧化酶活性和抗氧化剂的积累在抑制膜蛋白和脂质过氧化中起着重要作用。许多研究表明, SOD、POD 和 CAT 与植物的耐盐性密切相关^[33]。SOD 通过形成过氧化氢来解除 O₂⁻ 自由基的毒性, 而过氧化氢必须通过 CAT 和 POD 的协同作用来彻底消除其毒害。研究表明, 小麦在不同的非生物胁迫下会改变 SOD、CAT、APX 和 POD 等抗氧化酶的活性来抵御氧化损伤^[34]。大多数抗氧化酶在小麦面临非生物胁迫下增强其活性, 如在热休克处理下, 小麦 SOD 合成酶相关基因表达量增加^[35]。外源藻类提取物可以通过激素调节来提高植物抗氧化能力从而增强作物的耐盐性^[36]。Salem 等^[37]对蚕豆植株施用钝顶螺旋藻(100 mg/L), 提高了其 SOD、POD、CAT 和 APX 的活性, 降低了盐胁迫的负面影响。本研究中, 小麦幼苗植株的 SOD、POD、CAT 和 APX 活性在盐胁迫条件下显著高于对照组, 而在添加 DAE 后又比盐胁迫条件下相对提高, 这些酶的激活可以保护小麦幼苗免受氧化损伤。这些结果表明, DAE 能有效诱导小麦早期幼苗提高抗氧化酶活性清除 ROS。因此, DAE 可能会增强盐胁迫条件下小麦早期幼苗的防御反应。

3.4 微藻提取物对小麦早期幼苗渗透调节能力的影响

植物在受到非生物胁迫时, 细胞膜受损, 渗透压失衡。而脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白等渗透调节物质含量的增加使细胞内产生负渗透势, 导致水进入细胞, 以维持水平衡和细胞渗透压来稳定细胞膜, 防止盐胁迫引起的细胞质脱水^[38]。而脯氨酸不仅在非生物胁迫下起到渗透保护作用, 而且还能调节渗透势, 稳定细胞结构, 减少胁迫对光合器官的损

伤^[39]。Zhang 等^[40]发现脯氨酸代谢途径对盐胁迫的反应存在显著差异。脯氨酸诱导盐胁迫响应基因的表达, 促进植物对盐胁迫的适应, 同时诱导抗氧化酶清除 ROS。外源性脯氨酸的应用可以改善抗氧化活性, 降低氧化损伤和脂质过氧化水平^[41]。本研究中, 盐胁迫条件下 DAE 的施用进一步增加了植物叶片脯氨酸、可溶性蛋白和可溶性总糖的含量, 有助于改善盐胁迫导致的渗透失衡, 表明 DAE 处理增强了小麦早期幼苗的渗透调节能力。

4 结 论

盐胁迫条件下, 小麦种子萌发和早期幼苗的生长明显受到抑制, 种子萌发率和早期幼苗生物量的积累均显著降低, 而外源添加 DAE 能促进小麦种子早期萌发的启动, 提高小麦早期幼苗叶绿素含量、抗氧化酶活性和渗透调节能力, 增加小麦种子及早期幼苗对盐胁迫的适应性, 促进小麦种子萌发和早期幼苗生长。其中, 外源添加 DAE 处理缓解了盐胁迫对小麦种子萌发的抑制作用, 使小麦种子的发芽率、发芽势和发芽指数均有所提高, 并以添加 25 mg/L DAE 处理效果最佳, 使发芽率、发芽势和发芽指数分别显著提高了 18.26%、26.19%和 15.80%。外源添加 DAE 处理缓解了盐胁迫对早期幼苗生长的抑制作用, 提高了盐胁迫下小麦早期幼苗叶片含水量, 促进了生物量的积累, 抗氧化酶活性以及脯氨酸、可溶性总糖、可溶性蛋白质和叶绿素的含量, 降低了脂质过氧化作用, 减少了 MDA 含量和膜透性, 并以 25 mg/L DAE 处理缓解作用最显著, 早期幼苗膜脂过氧化程度最小, 膜透性和 MDA 含量分别显著降低了 14.41%和 45.55%。

参考文献:

[1] ADIL M, ZHANG S H, WANG J, *et al.* Effects of fallow management practices on soil water, crop yield and water use efficiency in winter wheat monoculture system: A meta-analysis[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 825309.

[2] ARSHAD M A, ANSARI N, UMAR M, *et al.* A review on wheat management, strategies, current problems and future perspectives[J]. *Haya: The Saudi Journal of Life Sciences*, 2021, 6(1): 14-18.

[3] SADDIQ M S, IQBAL S, HAFEEZ M B, *et al.* Effect of sa-

linity stress on physiological changes in winter and spring wheat[J]. *Agronomy*, 2021, 11(6): 1193.

[4] RAZA A, TABASSUM J, FAKHAR A Z, *et al.* Smart re-programing of plants against salinity stress using modern biotechnological tools[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2023, 43(7): 1035-1062.

[5] SINGH R P, JHA P, JHA P N. The plant-growth-promoting bacterium *Klebsiella* sp. SBP-8 confers induced systemic tolerance in wheat (*Triticum aestivum*) under salt stress[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2015, 184: 57-67.

[6] YOUNESSI-HAMZEKHANLU M, DIBAZARNIA Z, OUSTAN S, *et al.* Mild salinity stimulates biochemical activities and metabolites associated with anticancer activities in black horehound (*Bal-lota nigra* L.)[J]. *Agronomy*, 2021, 11(12): 2538.

[7] COLLA G, ROUPHAEL Y. Microalgae: New source of plant biostimulants[J]. *Agronomy*, 2020, 10(9): 1240.

[8] TARRAF S A, TALAAT I M, EL-SAYED A E K B, *et al.* Influence of foliar application of algae extract and amino acids mixture on fenugreek plants in sandy and clay soils[J]. *Nus-antara Bioscience*, 1970, 7(1): 33-37.

[9] EL ARROUSSI H, ELBAOUCHI A, BENHIMA R, *et al.* Halophilic microalgae *Dunaliella salina* extracts improve seed germination and seedling growth of *Triticum aestivum* L. under salt stress[J]. *Acta Horticulturae*, 2016(1148): 13-26.

[10] 边建文, 崔岩, 杨宋琪, 等. 衣藻和固氮鱼腥藻对盐胁迫下小麦幼苗生长的影响[J]. *浙江农业学报*, 2020, 32(10): 1748-1756.

BIAN J W, CUI Y, YANG S Q, *et al.* Effects of *Chlamydo-monas debaryana* Gor. and *Anabaena azotica* Ley. on wheat seedling growth under salt stress [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2020, 32(10): 1748-1756.

[11] BELLO A S, BEN-HAMADOU R, HAMD I H, *et al.* Ap-plication of cyanobacteria (*Roholtiella* sp.) liquid extract for the alleviation of salt stress in bell pepper (*Capsicum annuum* L.) plants grown in a soilless system[J]. *Plants*, 2021, 11(1): 104.

[12] DUTTA S K, LAYEK J, AKOIJAM R S, *et al.* Seaweed extract as natural priming agent for augmenting seed quality traits and yield in *Capsicum frutescens* L. [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2019, 31(6): 3803-3813.

[13] ABU-GHOSH S, DUBINSKY Z, VERDELHO V, *et al.* Unconventional high-value products from microalgae: A re-view[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 329: 124895.

[14] 程慧莹, 李贵丽, 韩志萍, 等. 链带藻 *Desmodesmus* sp. QL96 蛋白质的营养价值评价与生理活性研究[J]. *热带作物学报*, 2021, 42(5): 1440-1447.

CHENG H Y, LI G L, HAN Z P, *et al.* Evaluation of *Desmodesmus* sp. QL96 protein on nutritional value and its physiological activity [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2021, 42(5): 1440-1447.

[15] 赵昕悦, 孟祥伟, 刘妍, 等. 一株产蛋白微藻 *Desmodesmus abundans* ZM-4 的单细胞分选、鉴定及对养猪废水降解特性研究[J]. *东北师大学报(自然科学版)*, 2022, 54(4): 121-128.

ZHAO X Y, MENG X W, LIU Y, *et al.* Isolation and iden-tification of a protein-producing microalgae *Desmodesmus abundans* ZM-4 and its degradation characteristics in pig wastewater[J]. *Journal of Northeast Normal University* (Natural Science Edition), 2022, 54(4): 121-128.

[16] 魏爱丽, 杨谢, 王捷, 等. 念珠藻类(蓝藻) *psbA* 基因的进化分析[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2023, 51(1): 114-122.

WEI A L, YANG X, WANG J, *et al.* Evolutionary analysis on *psbA* gene of *Nostoc*-like(Cyanobacteria)[J]. *Journal of Henan Normal University* (Natural Science Edition), 2023, 51(1): 114-122.

[17] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemis-try*, 1976, 72(1): 248-254.

[18] 王帆, 何奇瑾, 周广胜. 夏玉米三叶期持续干旱下不同叶位叶片含水量变化及其与光合作用的关系[J]. *生态学报*, 2019, 39(1): 254-264.

WANG F, HE Q J, ZHOU G S. Leaf water content at dif-ferent positions and its relationship with photosynthesis when consecutive drought treatments are applied to summer maize from the 3-leaf stage[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(1): 254-264.

[19] PLANCHET E, VERDU I, DELAHAIE J, *et al.* Absciscic acid-induced nitric oxide and proline accumulation in inde-pendent pathways under water-deficit stress during seedling establishment in *Medicago truncatula* [J]. *Journal of Ex-perimental Botany*, 2014, 65(8): 2161-2170.

[20] 孔祥生, 易现峰. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008.

[21] MA X H, ZHENG J, ZHANG X L, *et al.* Salicylic acid alle-viates the adverse effects of salt stress on *Dianthus superbus* (Caryophyllaceae) by activating photosynthesis, protecting morphological structure, and enhancing the antioxidant sys-tem[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 600.

[22] HEATH R L, PACKER L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid per-oxidation[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1968, 125(1): 189-198.

[23] YOUSEFI S, KARTOOLINEJAD D, BAHMANI M, *et al.* Effect of *Azospirillum lipoferum* and *Azotobacter chroococ-cum* on germination and early growth of hopbush shrub (*Dodonaea viscosa* L.) under salinity stress[J]. *Journal of Sustainable Forestry*, 2017, 36(2): 107-120.

[24] BAHMANI JAFARLOU M, PILEHVAR B, MODARRESI M, *et al.* Performance of algae extracts priming for enhan-cing seed germination indices and salt tolerance in *Calotropis procera* (Aiton) W. T[J]. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 2021, 45(2): 493-502.

[25] LIU S, LI B, CHEN X L, *et al.* Effect of polysaccharide from *Enteromorpha prolifera* on maize seedlings under NaCl stress[J]. *Journal of Oceanology and Limnology*, 2019, 37(4): 1372-1381.

[26] KHAN W, RAYIRATH U P, SUBRAMANIAN S, *et al.*

Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2009, 28 (4): 386-399.

[27] TAO R R, DING J F, LI C Y, *et al.* Evaluating and screening of agro-physiological indices for salinity stress tolerance in wheat at the seedling stage[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 646175.

[28] ANNUNZIATA M G, CIARMIELLO L F, WOODROW P, *et al.* Durum wheat roots adapt to salinity remodeling the cellular content of nitrogen metabolites and sucrose [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 7: 2035.

[29] LI H Q, YUE H W, LI L, *et al.* Seed biostimulant *Bacillus* sp. MGW9 improves the salt tolerance of maize during seed germination[J]. *AMB Express*, 2021, 11(1): 74.

[30] BAHMANI JAFARLOU M, PILEHVAR B, MODARESI M, *et al.* Seaweed liquid extract as an alternative biostimulant for the amelioration of salt-stress effects in *Calotropis procera* (Aiton) W. T. [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2023, 42(1): 449-464.

[31] 周晓瑾, 黄海霞, 张婷, 等. 盐胁迫对裸果木幼苗生长和叶片抗逆生理指标的影响[J]. *西北植物学报*, 2023, 43(9): 1509-1517.

ZHOU X J, HUANG H X, ZHANG T, *et al.* Response of seedling growth and leaf resistance physiological indexes of *Gymnocarpus przewalskii* to NaCl stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2023, 43(9): 1509-1517.

[32] SADAK M S, HANAFY R S, ELKADY F M A M, *et al.* Exogenous calcium reinforces photosynthetic pigment content and osmolyte, enzymatic, and non-enzymatic antioxidants abundance and alleviates salt stress in bread wheat [J]. *Plants*, 2023, 12(7): 1532.

[33] TALAAT N B, HANAFY A M A. Plant growth stimulators improve two wheat cultivars salt-tolerance: Insights into their physiological and nutritional responses [J]. *Plants*, 2022, 11(23): 3198.

[34] CAVERZAN A, CASASSOLA A, BRAMMER S P. Antioxidant responses of wheat plants under stress[J]. *Genetics and Molecular Biology*, 2016, 39(1): 1-6.

[35] KUMAR R, SHARMA S, GOSWAMI S, *et al.* Transcript profiling and biochemical characterization of mitochondrial superoxide dismutase (mtSOD) in wheat (*Triticum aestivum*) under different exogenous stresses[J]. *Australian Journal of Crop Science*, 2013, 7(3): 414-424.

[36] ZOU P, LU X L, ZHAO H T, *et al.* Polysaccharides derived from the brown algae *Lessonia nigrescens* enhance salt stress tolerance to wheat seedlings by enhancing the antioxidant system and modulating intracellular ion concentration [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 48.

[37] SELEM E. Physiological effects of *Spirulina platensis* in salt stressed *Vicia faba* L. plants[J]. *Egyptian Journal of Botany*, 2019, 59(1): 185-194.

[38] SHARMA A, SHAHZAD B, KUMAR V, *et al.* Phytohormones regulate accumulation of osmolytes under abiotic stress[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(7): 285.

[39] CHAUDHRY S, SIDHU G P S. Climate change regulated abiotic stress mechanisms in plants: A comprehensive review [J]. *Plant Cell Reports*, 2022, 41(1): 1-31.

[40] ZHANG Z, MAO C Y, SHI Z, *et al.* The amino acid metabolic and carbohydrate metabolic pathway play important roles during salt-stress response in tomato[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1231.

[41] HASANUZZAMAN M, ALAM M M, RAHMAN A, *et al.* Exogenous proline and glycine betaine mediated upregulation of antioxidant defense and glyoxalase systems provides better protection against salt-induced oxidative stress in two rice (*Oryza sativa* L.) varieties[J]. *BioMed Research International*, 2014, 2014: 757219-757235.